

Рекомендована д.х.н., професором В.В.Болотовим

УДК 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМПІЦИЛІНУ ТРИГІДРАТУ КІНЕТИЧНИМ МЕТОДОМ

М.Є.Блажеєвський, С.П.Карпова

Національний фармацевтичний університет

Вивчена кінетика спряжених реакцій S-окиснення та пергідролізу ампіциліну тригідрату з калію пероксомоносульфатом у лужному середовищі за світлопоглинанням утворюваного продукту при 302 нм. Оптимізовано умови та розроблена методика кількісного визначення ампіциліну тригідрату в таблетках кінетичним методом з використанням як реагенту розчину потрійної калієвої солі кислоти Каро ("Оксон"). RSD = 2,04%. Результати аналізу препарату, одержані за новоопрацьованою та чинною фармакопейною методиками, узгоджуються між собою ($\delta = -1,82\%$).

Не дивлячись на появу нових груп антимікробних засобів, антибіотичні препарати пеніцилінового ряду продовжують займати значне місце в терапії інфекційних захворювань. Зокрема, серед продукованих вітчизняними виробниками пеніцилінів великого поширення набув стійкий до гідролізу напівсинтетичний препарат — ампіциліну тригідрат. Так, ампіциліну тригідрат завдяки додатковій активності щодо грамотрибної флори, на яку не діє препарат природного походження бензилпеніцилін, вважається антибіотиком широкого спектра дії, придатний до вживання *per os* при захворюваннях, викликаних змішаною інфекцією.

Для кількісного визначення препаратів пеніцилінового ряду рекомендовані методи високоефективної рідинної хроматографії [13], спектрофотометрії [5, 9, 10, 16], потенціометричного титрування [6], йодометрії [4]; для визначення ампіциліну також успішно застосовують метод потенціометрії з використанням іонно-селективних електродів [3], різні варіанти вольтамперометрії [18], амперометрії [8], полярографічного аналізу [2], кінетики [15].

Відомі також спектрофотометричні методики, які ґрунтуються на реакціях окиснення продуктів гідролітичного розщеплення пеніцилінів солями феруму (III) [17], молібдату і ванадату амонію [7], їх взаємодії з солями міді (II) [1,11], дегідроаскорбіновою кислотою [14] та ін. [12]. Ці методики дозволяють визначити пеніциліни в лікарських препаратах у присутності різноманітних допоміжних речовин.

Розроблена нами методика визначення ампіциліну тригідрату має ряд переваг перед уже відомими: дозволяє визначати їх у значно менших кількостях, ніж фармакопейним методом йодометрії; придатна для того ж інтервалу визначуваних концентрацій, що і в методі фотометрії продуктів гідролізу, але при цьому не вимагає довготривалого нагрівання реакційної суміші, простіша за методики хроматографічного методу аналізу та швидша. Запропонована методика полягає в попередньому окисненні ампіциліну тригідрату надлишком пероксомоносульфатної кислоти до відповідного S-оксиду з наступним визначенням продукту гідролітичного перетворення його в лужному середовищі при 302 нм кінетичним методом. Схема перетворень, які призводять до утворення продукту реакції, наведена на рис. 1.

Матеріали та методи

Для досліджень використовували препарат ампіциліну тригідрату ((2S,5R,6R)-6-[(R)-2-аміно-2-фенілацетил]аміно-3,3-диметил-7-оксо-4-тіа-1-азабіцикло[3.2.0]гептан-2-карбоксилату) у таблетках по 0,250 г серії ДО1210 виробництва ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", Харків, Україна. Як окисник використовували пероксомоносульфатну кислоту у вигляді потрійної калієвої солі $2\text{KHSO}_5\text{KHSO}_4\text{K}_2\text{SO}_4$ кваліфікації "extra pure" ("Оксон") з вмістом активного кисню $\leq 4,5\%$. Вибір реагента обумовлений його доступністю, доброю розчинністю і стійкістю у воді та відносно високою оксидативною здатністю.

Розчин робочого стандартного зразка (РСЗ) ампіциліну тригідрату 500 мкг/мл. Наважку 0,0500 г РСЗ ампіциліну тригідрату розчиняли у 100,00 мл дистильованої води при 20°C.

Виготовлення робочого розчину пероксомоносульфатної кислоти, $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Наважку 0,6148 г солі розчиняли у 100,0 мл двічі дистильованої води при 20°C. Концентрацію розчину контролювали методом йодометричного титрування.

Як РСЗ ампіциліну тригідрату використовували субстанцію ампіциліну тригідрату фармакопейної чистоти з точно відомим вмістом основної речовини.

Електронні спектри реєстрували на спектрофотометрії СФ-26 (ЛОМО, ССРСР); кінетику ви-

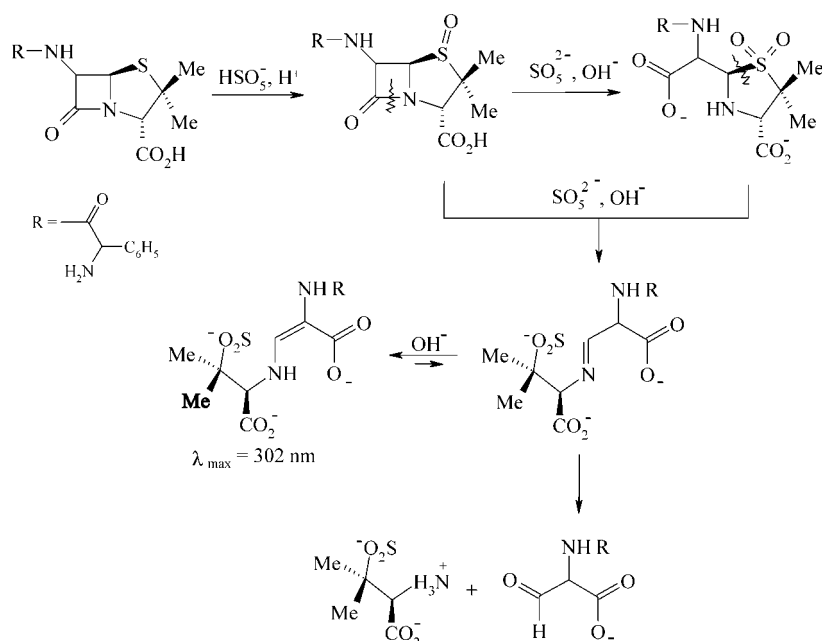


Рис. 1. Схема спряжених реакцій пероксициклотного окиснення та пергідролізу натрію ампіциліну з утворенням заміщеного похідного N-акрил- β -пеніциламіну сульфінату (IV).

вчали за світлобिरанням утвореного продукту реакції при 302 нм. Для вимірювання оптичної густини розчинів використовували кювету з товщиною вбираючого шару $l = 1$ см; розчини перед зливанням термостатували у термостаті UTU-2 (Zeamit, Horizont Krakow-Poland), час фіксували секундоміром з моменту змішування розчинів. Для створення та підтримки необхідної кислотності середовища використовували 0,1 моль/л розчину натрій гідроксиду, який не містив карбонатів. Обробку результатів здійснювали методом "тангенсів" (диференційний варіант). Швидкість оцінювали за тангенсом кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої $A - \text{час}$ ($\text{tg } \alpha_{\text{амп}}$, хв^{-1}).

Результати та їх обговорення

У результаті дослідження з'ясовано, що порядок змішування розчинів суттєво чинить вплив на кінетику та вихід продукту реакції. Найвища швид-

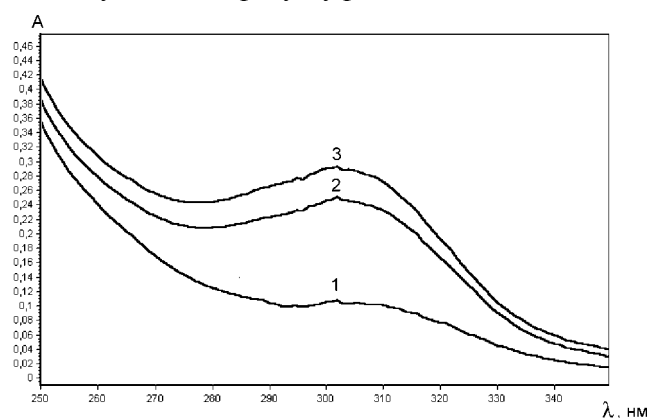


Рис. 2. Електронні спектри світлопоглинання продукту реакції пергідролізу ампіциліну тригідрату в часі: 1 – 1 хв, 2 – 5 хв, 3 – 10 хв. $c(\text{NaOH}) = 7,3 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $c(\text{KHSO}_5) = 2 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $c(\text{ампіциліну } \tau/\tau) = 25$ мкг/мл.

кість нагромадження продукту спостерігається лише після попереднього змішування розчину зразка досліджуваного ампіциліну тригідрату з пероксомоносульфатною кислотою, а відтак — розчином лугу. Максимальна активність пероксомоносульфатної кислоти у реакції спостерігалася при її концентрації $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Встановлено, що оптимальна концентрація лугу, при якій спостерігалась найбільша швидкість утворення продукту реакції, становила $4,9 \cdot 10^{-3}$ моль/л. У відсутності пероксомоносульфатної кислоти в зазначених вище умовах впродовж перших 30 хв (час спостереження) утворення продукту реакції не відбувалось. Такий необхідний надлишок пероксомоносульфатної кислоти може бути пояснений її участю в процесі подальшого гідролітичного розщеплення утвореного на першій стадії реакції відповідного S-оксиду ампіциліну тригідрату в лужному середовищі (нуклеофільний каталіз гідролізу β -лактамного та тiazолідинового циклів). На рис. 2 зображені електронні спектри світлопоглинання продукту реакції пергідролізу ампіциліну тригідрату в часі. Максимальне світлопоглинання продукту реакції спостерігається при 302 нм.

На рис. 3 наведені кінетичні криві утворення продукту пергідролізу S-оксиду ампіциліну тригідрату у системі ампіциліну $\tau/\tau - \text{SO}_5^{2-}$. Як видно, на ділянці від 2 до 4-8 хв вони мають лінійний характер.

На рис. 4 наведений градувальний графік кількісного визначення ампіциліну тригідрату. Він свідчить, що умовна швидкість реакції — $\text{tg } \alpha$ зберігає лінійний характер залежно від концентрації ампіциліну тригідрату (в межах від 1 до 50 мкг/мл). Цей факт дозволяє здійснювати ви-

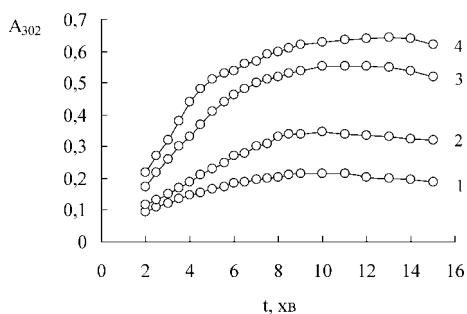


Рис. 3. Кінетичні криві утворення продукту пергідролізу S-оксиду ампіциліну $\tau/\text{г}$ у системі ампіциліну $\tau/\text{г} - \text{SO}_5^{2-}$. $c(\text{NaOH}) = 4,9 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $c(\text{KHSO}_5) = 2 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $c(\text{ампіциліну } \tau/\text{г})$: 1 – 10 мкг/мл; 2 – 20 мкг/мл; 3 – 30 мкг/мл; 4 – 40 мкг/мл.

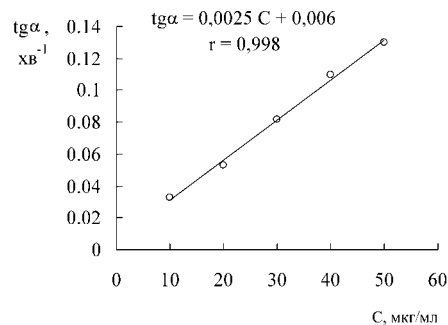


Рис. 4. Градувальний графік кількісного визначення ампіциліну тригідрату. $c(\text{KHSO}_5) = 2 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $c(\text{NaOH}) = 4,9 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Таблиця

Результати кількісного визначення ампіциліну тригідрату за реакцією з пероксомоносульфатною кислотою ($n=5$, $P=0,95$)

Взято ампіциліну тригідрату, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г	%	
Таблетки по 0,250 г серії ДО1210, виробництва ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", Харків, Україна			
0,2512*	0,2420	96,80	$\bar{x} = 0,2466$ (98,66%) $S = \pm 0,00502$ $S\bar{x} = \pm 0,00225$ $\Delta x = \pm 0,00625$ $S_r = \pm 2,04\%$ $\epsilon = \pm 2,53\%$ $\delta = -1,82\%$
	0,2511	100,84	
	0,2411	96,44	
	0,2470	98,80	
	0,2520	100,82	

Примітка. * Вміст ампіциліну тригідрату, вказаний у сертифікаті якості.

значення ампіциліну тригідрату в зазначеному інтервалі його концентрацій в розчині. Результати кількісного визначення ампіциліну тригідрату в таблетках по 0,25 г за реакціями S-окиснення та пергідролізу наведені в таблиці, з якої видно, що визначення ампіциліну тригідрату можливе із задовільною точністю ($RSD = 2,04\%$, $\delta = -1,82\%$).

Побудова градувального графіка. У мірні колби на 50 мл за допомогою мікробюретки послідовно відміряють 1,00; 2,00; 3,00; 4,00; 5,00 мл стандартного розчину ампіциліну тригідрату, додають в кожен по 5 мл $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л розчину пероксомоносульфатної кислоти і ретельно збовтують. У кожен колбу послідовно приливають 4,0 мл $4,9 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину натрію гідроксиду, доводять об'єм до позначки дистильованою водою і ретельно перемішують. Після додавання розчину луку починають відлік часу, вмикають секундомір. Одержані розчини фотометрують у кварцовій кюветі товщиною 1 см при 302 нм проти дистильованої води (компенсаційний розчин) впродовж 10 хв щохвилини при 20°C і будують кінетичні криві залежності оптичної густини від часу. За даними нахилу лінійних ділянок кінетичних кри-

вих будують градувальну залежність $tg\alpha$ від концентрації ампіциліну (C , мкг/мл).

Методика кількісного визначення ампіциліну тригідрату в таблетках по 0,25 г. Близько 0,075 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 1 мл диметилформаміду і 50 мл дистильованої води, ретельно перемішують впродовж 2 хв, доводять об'єм розчину до позначки і знову перемішують. За допомогою піпетки 5,00 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу на 50 мл і далі виконують аналіз аналогічно, як при побудові градувального графіка. Розчин фотометрують щохвилини у кварцовій кюветі товщиною 1 см при 302 нм, використовуючи дистильовану воду як компенсаційний розчин, протягом 10 хв. Будують кінетичну криву залежності світлопоглинання розчину (A) від часу. За графіком знаходять тангенс кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої.

Вміст $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ у г у одній таблетці ($x_{амп}$) розраховують за формулою:

$$x_{амп} = \frac{a_{cm} \cdot tg\alpha \cdot 0,9880 \cdot \bar{a}}{a \cdot tg\alpha_{cm}}$$

де: a_{cm} — маса наважки РСЗ ампіциліну тригідрату, г; $tg\alpha_{cm}$ — тангенс кута нахилу кінетичної кривої у досліді з РСЗ ампіциліну тригідрату, $хв^{-1}$; a — маса наважки досліджуваного порошку ампіциліну тригідрату, г; \bar{a} — середня маса таблетки, г; $tg\alpha$ — тангенс кута нахилу кінетичної кривої у досліді з досліджуваним розчином ампіциліну тригідрату, $хв^{-1}$; 0,9880 — масова частка основної речовини ампіциліну тригідрату у РСЗ в перерахунку на безводну речовину.

ВИСНОВКИ

1. Вивчена кінетика спряжених реакцій S-окиснення та пергідролізу за посередництвом пероксомоносульфатної кислоти ампіциліну тригідрату в лужному середовищі.

2. Як аналітичний реагент для фотометрично-кінетичного визначення ампіциліну тригідрату запропонована потрійна калієва сіль кислоти Каро ("Оксон").

3. Опрацьована нова методика кількісного визначення ампіциліну тригідрату в таблетках. RSD = 2,04%. Результати аналізу препарату, одержані новоопрацьованою та стандартною фармакопейною методиками, добре узгоджуються між собою ($\delta = -1,82\%$).

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеев В.Г., Лапшин С.В. // *Вопр. биол., мед. и фарм. химии.* — 2007. — №1. — С. 27-30.
2. Блажеєвський М.Є. // *Укр. хім. журн.* — 2005. — Т. 71, №10. — С. 90-93.
3. Кулапина Е.Г., Барагузина В.В., Кулапина О.И. // *Журн. аналит. хим.* — 2004. — Т. 59, №9. — С. 971-975.
4. Туркевич М., Владзімірська О., Лесик Р. *Фармацевтична хімія (стероїдні гормони, їх синтетичні замінники і гетероциклічні сполуки як лікарські засоби): Підручник.* — Вінниця: Нова книга, 2003. — 464 с.
5. Al-Momani I.F. // *Anal. Lett.* — 2004. — Vol. 37, №10. — P. 2099-2110.
6. *British Pharmacopoeia.* — London: The Pharmaceutical Press, 1993. — Vol. 1. — P. 79-80; Vol. 2. — P. 793.
7. El-Shafie F.S., Gad-Kariem E.A., Al-Rashood K.A. et al. // *Anal. Lett.* — 1996. — Vol. 29, №3. — P. 381-393.
8. Feher Z., Kolbe R., Pungor R. et al. // *Analyst.* — 1988. — Vol. 113, №6. — P. 881-884.
9. Fernandez-Gonzalez A., Badia R., Diaz-Garcia M.E. // *Anal. Chim. Acta.* — 2003. — Vol. 484, №2. — P. 223-231.
10. Fernandez-Gonzalez A., Badia R., Diaz-Garcia M.E. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 2002. — Vol. 29, №4. — P. 669-679.
11. Fernandez-Gonzalez A., Badia R., Diaz-Garcia M.E. // *Anal. Biochem.* — 2005. — Vol. 341, №1. — P. 113-121.
12. Gunawan I., Kiauw S.T., Lig J. // *Chromatogr. and Relat. Technol.* — 2001. — Vol. 24, №10. — P. 1501-1510.
13. Lambert K. Sorensen, Birthe M. Rasmussen, Joe O. Boison and Lily Keng // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. and Applicat.* — 1997. — Vol. 694, №2. — P. 383-391.
14. Matonsova O., Peterkova M., Kakac B. // *Cs. Farm.* — 1983. — Vol. 32, №5. — P. 153-155.
15. Rodante F., Vecchio S., Tomassetti M. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 2002. — Vol. 29, №6. — P. 1031-1043.
16. Salem Hesham, Saleh Gamal A. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 2002. — Vol. 28, №6. — P. 1205-1213.
17. Singh K. // *Ind. J. Technol.* — 1993. — Vol. 31, №8. — P. 613-614.
18. Uslu Bengi, Biryol Ynci // *J. Pharm. Belg.* — 1998. — Vol. 53, №3. — P. 114-271.

УДК 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМПИЦИЛЛИНА ТРИГИДРАТА

Н.Е.Блажеєвський, С.П.Карпова

Изучена кинетика сопряженных реакций S-окислирования и пергидролиза ампициллина тригидрата с пероксомоносульфатом калия в щелочной среде по светопоглощению образующегося продукта при 302 нм. Оптимизированы условия и разработана методика количественного определения ампициллина тригидрата в таблетках кинетическим методом с использованием в качестве реагента раствора тройной калиевой соли кислоты Каро ("Оксон"). RSD = 2,04%. Результаты анализа препарата, полученные с помощью разработанной и стандартной фармакопейной методики, хорошо согласуются между собой ($\delta = -1,82\%$).

UDC 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

QUANTITATIVE ANALYSIS OF AMPICILLINE TRIHYDRATE

M.Ye.Blazhejevskiy, S.P.Karpova

The kinetics of the conjugated reactions of S-oxidation and perhydrolysis of ampicilline trihydrate with potassium peroxomonosulphate in the alkaline medium has been studied by light absorbance of a forming product at 302 nm. The conditions have been optimized and the quantitative analysis procedure for ampicilline trihydrate in tablets by the kinetic method has been worked out using Caro acid triple potassium salt solution ("Oxon") as a reagent. RSD = 2.04%. The results of the analysis by the developed and standard pharmacopoeic procedures have been conformed well ($\delta = -1.82\%$).